



ФИЗИКА

УДК 57.085.4, 57.085.22, 535.361.22

ВИЗУАЛИЗАЦИЯ ПРОНИКНОВЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ TiO_2 В ТКАНИ ЗУБА ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ



Н. А. Трунина, В. В. Тучин*

Саратовский государственный университет
Институт проблем точной механики и управления РАН, Саратов
E-mail: trunina1987@mail.ru, tuchinv@mail.ru

Проникновение наночастиц в ткани зуба представляет значительный интерес при решении проблем, связанных с уменьшением чувствительности зуба, укреплением и восстановлением эмали, при отбеливании с косметическими целями. В настоящей работе продемонстрирована принципиальная возможность использования оптической когерентной томографии для визуализации проникновения наночастиц в ткани зуба. В результате длительной обработки образца зубной ткани суспензией наночастиц двуоксида титана наблюдается заметное (до 5 дБ) увеличение сигнала ОКТ с глубин 300–600 мкм, что свидетельствует о проникновении наночастиц в эмаль и дентин.

Ключевые слова: оптическая когерентная томография, эмаль, дентин, наночастицы диоксида титана.

Visualization of Penetration of TiO_2 Nanoparticles into Tooth Tissues Samples Using Optical Coherence Tomography

N. A. Trunina, V. V. Tuchin

Penetration of nanoparticles into the tooth tissues is of significant interest in solving the problems, related to the reduction of the tooth sensitivity, enamel strengthening and restoration and cosmetic bleaching. In the present paper we demonstrate the possibility to use optical coherent tomography for visualization of penetration of nanoparticles into the tooth tissues. As a result of long-term treatment of the tooth tissue sample with the suspension of titanium dioxide nanoparticles we observed significant (up to 5 dB) growth of the OCT signal intensity from the depth 300–600 μm which is an evidence of nanoparticles penetration into the enamel and dentin.

Key words: optical coherent tomography, enamel, dentin, nanoparticles of titanium dioxide.

Введение

Взаимодействие наночастиц с тканями зуба может оказаться перспективным при решении ряда терапевтических и косметических проблем, к которым относится уменьшение чувствительности зуба к внешним воздействиям, укрепление и восстановление эмали, а также косметическое отбеливание зубов. Проблемам и перспективам применения наночастиц и нанотехнологий в ме-

дицине и, в частности, в стоматологии посвящено несколько обзорных статей [1,2]. Потенциальное применение нанотехнологий в медицине очень широко [2]. Это визуализация и диагностика, целевая доставка лекарственных препаратов, терапия и инженерия тканей. Наиболее разработанным и уже широко используемым направлением использования наночастиц в стоматологии на сегодняшний день является их добавление в составы, применяемые для восстановления поврежденной зубной ткани [2]. Другие направления еще находятся в стадии экспериментального исследования. Одна из актуальных задач стоматологии – закупоривание дентинных тубул с целью уменьшения чувствительности зуба. Для этой цели в работе [3] использовались наночастицы золота с последующим лазерным воздействием. Внедрение антибактериальных наночастиц в тубулы может использоваться как способ их доставки для улучшения дезинфекции корневого канала. Авторы [4] показали, что эффективность такого внедрения можно повысить с помощью высокоинтенсивного ультразвукового воздействия, приводящего к коллапсу кавитационных пузырьков. С целью отбеливания дентина в работе [5] использовался раствор 3.5%-ной перекиси водорода с взвесью наночастиц диоксида титана. Отбеливающий агент применялся на срезах дентина с последующим воздействием 405 нм диодным лазером или галогеновой лампой. С помощью спектрофотометрических измерений был продемонстрирован значительный эффект отбеливания в результате указанного комбинированного воздействия. Наконец, в работе [6] исследовалось восстановление эмали зуба с помощью наночастиц гидроксиапатита и было обнаружено принципиальное значение их размера. Частицы с размером 20–40 нм, типичным



для собственных структурных элементов эмали, обеспечивали создание прочного покрытия на ее поверхности, устойчивого к кислотным агентам, в то время как частицы большего размера таким эффектом не обладали.

Во всех указанных задачах в большей или меньшей степени возникает необходимость неразрушающего мониторинга проникновения наночастиц в глубь ткани зуба. Одним из перспективных средств такого мониторинга является оптическая когерентная томография (ОКТ). В недавних работах [7–9] нами продемонстрирована эффективность метода ОКТ при мониторинге диффузии химических агентов в дентине зуба человека. В настоящей работе впервые предпринята попытка распространения указанной методики на исследование проникновения наночастиц диоксида титана в эмаль и дентин образцов зуба человека *in vitro*.

1. Материалы и методы

1.1. Исследуемые образцы и методика проведения эксперимента

В работе исследовались образцы дентина и эмали зуба человека. Зубы удалялись в стоматологической клинике в результате плановой операции. После удаления для поддержания естественных свойств они хранились в физиологическом растворе при температуре $\sim 4^\circ\text{C}$ в защищенном от света месте. Смоченные водой образцы зубов распиливались с помощью алмазного диска вдоль или поперек дентинных канальцев. Полученные поперечные и продольные срезы зуба человека затем шлифовались. В поперечном срезе дентинные канальца располагались перпендикулярно поверхности среза зуба. Затем образцы обрабатывались ортофосфорной кислотой (37%) и помещались в ультразвуковую ванну на 10 мин для очистки от пыли и осколков, оставшихся после распиливания. Далее измерялись толщины полученных образцов.

На предварительном этапе микроскопические изображения образцов регистрировались с использованием оптического микроскопа (Axio Imager, Carl Zeiss, увеличение 32). Это делалось с целью предварительного определения характера распределения дентинных канальцев в образцах – размеров и плотности распределения тубул по поверхности спила.

Для обработки образцов использовалась суспензия наночастиц двуокиси титана TiO_2 (размер частиц <100 нм, Aldrich, USA) в Poly(Sodium4-Styrene-Sulfonate) с концентрацией наночастиц 10 мг/мл.

В начале эксперимента проводилось контрольное ОКТ-сканирование образцов, еще не обработанных наночастицами. Суспензия наночастиц TiO_2 предварительно помещалась в ультразвуковую (УЗ) ванну на 15 мин. Ультразвук с частотой 43–45 кГц использовался для предотвращения седиментации наночастиц.

Образцы погружались в кювету с суспензией наночастиц TiO_2 , а кювета помещалась в УЗ ванну на 15 мин. для стимуляции проникновения наночастиц в толщу зубной ткани. Затем поверхность образца промывалась водой и просушивалась в воздушном потоке в течение 30 мин. Эти меры предпринимались для удаления остатков взвеси с поверхности образца. После этого производилось его ОКТ-сканирование. Подобная процедура повторялась несколько раз, после чего образцы снова помещались в кювету с суспензией TiO_2 и оставлялись в ней до следующего дня. Полная продолжительность эксперимента с одним образцом составляла 10 дней.

1.2. Экспериментальная установка

Визуализация проникновения наночастиц в ткани зуба осуществлялась с помощью системы спектральной оптической когерентной томографии THORLABS Spectral Radar OCT. В этой системе источником излучения служит сверхлюминесцентный диод с центральной длиной волны излучения 930 нм. Ширина спектральной полосы составляет 100 нм, выходная мощность – 2 мВт, разрешение системы по глубине – 6.2 мкм, оптическая глубина сканирования – 1.6 мм. Параметры томографа не позволяют получать изображение отдельных наночастиц, поэтому об их присутствии и концентрации можно судить по изменению средних оптических параметров зондируемых слоев образца.

1.3. Обработка ОКТ-изображений

Обработка ОКТ-изображений, полученных в ходе экспериментов, проводилась следующим образом. В выбранной области ОКТ-изображения проводилось усреднение по группе соседних столбцов исходной матрицы изображения (А-сканов) с целью подавления шумовой составляющей сигнала. В результате для каждой выбранной области получалась усредненная зависимость интенсивности сигнала ОКТ от глубины. Присутствие наночастиц в толще образца приводит к изменению как коэффициента отражения зондируемого слоя, так и коэффициента ослабления в вышележащих слоях образца, проходящих зондирующим излучением в прямом и обратном

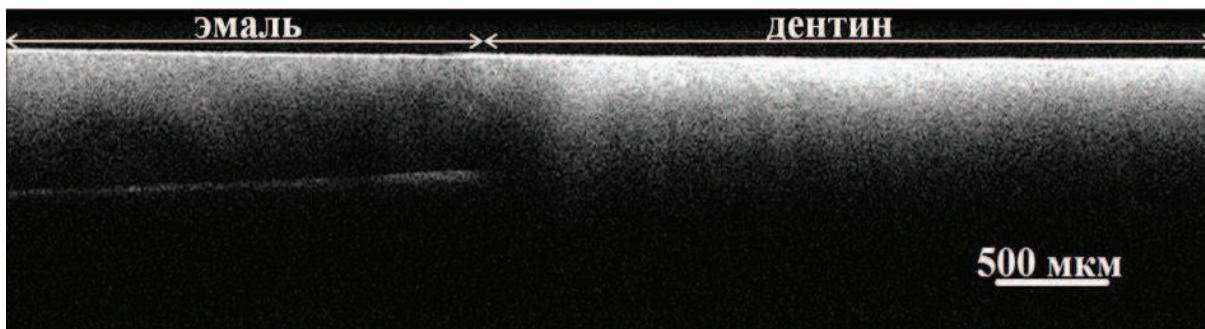


Рис. 1. ОКТ-изображение среза зуба человека до обработки наночастицами TiO_2

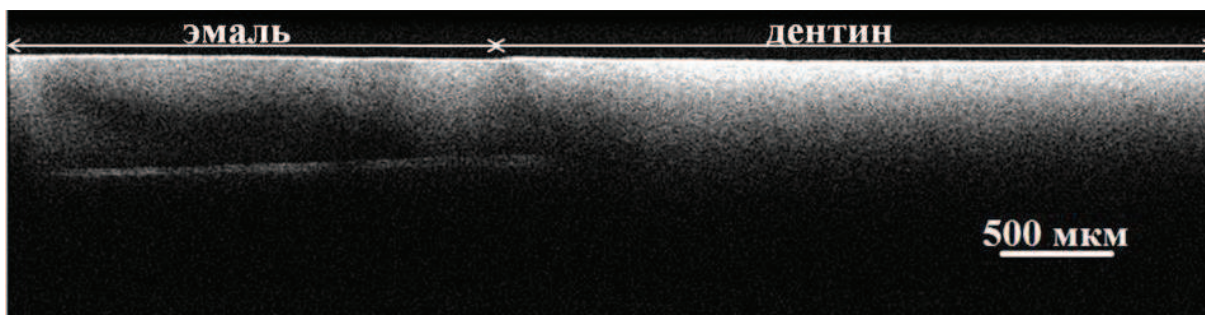


Рис. 2. ОКТ-изображение среза зуба человека после обработки наночастицами TiO_2 в течение 5 суток

направлении. Эти изменения проявляются в усредненной зависимости интенсивности сигнала ОКТ от глубины зондирования [7–12].

2. Результаты и их обсуждение

На рис. 1 показано ОКТ-изображение среза зуба человека до обработки частицами диоксида титана, а на рис. 2 – после обработки. Видны области как дентина (справа), так и эмали (слева). Яркость каждой точки изображения пропорциональна интенсивности сигнала ОКТ, приходящего от соответствующей точки образца. Из сравнения рис. 1 и рис. 2 можно заключить, что после длительной обработки взвесью наночастиц диоксида титана ОКТ-изображение образца несколько меняется. Визуально, без дополнительной обработки, эти изменения оценить трудно, однако видно, что происходит некоторое увеличение рассеивающих свойств образца на глубине порядка сотен микрометров от поверхности. Можно интерпретировать это как проявление проникновения наночастиц в образец. Для количественной оценки указанных изменений были построены усредненные А-сканы, полученные в различные моменты времени в процессе обработки образца наночастицами диоксида титана (рис. 3, 4). Видно, что с течением

времени вид А-скана постепенно меняется, причем наибольшее увеличение сигнала ОКТ (до 5 дБ) наблюдается непосредственно вблизи передней поверхности образца и на глубинах 300–600 мкм от нее, то есть вблизи задней поверхности образца, имевшего геометрическую толщину около 0.5 мм. Ясно видимый максимум на глубине около 500 мкм соответствует сигналу отражения от задней поверхности образца вместе с подложкой. Размытость этого максимума возникает за счет многократного рассеяния. Отметим, что за счет этого же механизма возникают «хвосты» ОКТ-изображений рассеивающих объектов в области прозрачной подложки, на которой они расположены [13]. Смещение указанного максимума вправо на рис. 4 (эмаль) по сравнению с рис. 3 (дентин) вызвано тем, что на всех рисунках глубина выражена в единицах оптической длины пути (так как ОКТ определяет ее по времени задержки сигнала), а эмаль имеет несколько больший показатель преломления, чем дентин. Таким образом, рост сигнала ОКТ отмечается вблизи передней и задней границ образца и может быть связан с проникновением наночастиц диоксида титана в эмаль и дентин среза зуба человека. Однако о точной глубине проникновения судить сложно,

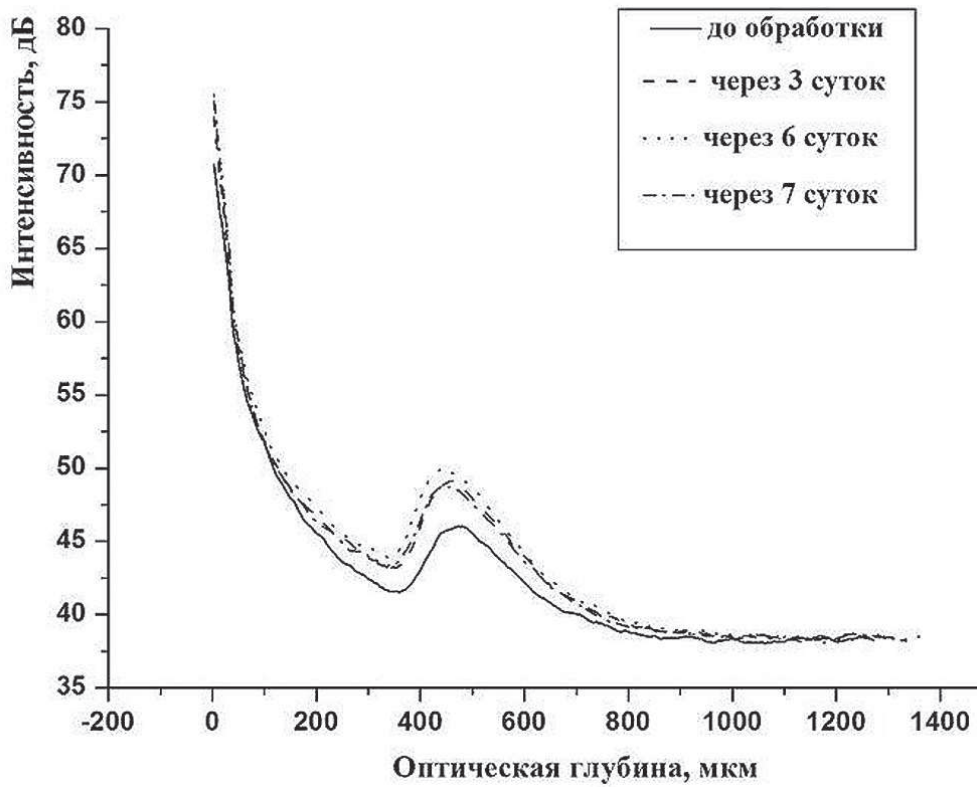


Рис. 3. Усредненные А-сканы, полученные в различные моменты времени в процессе обработки дентина наночастицами TiO_2

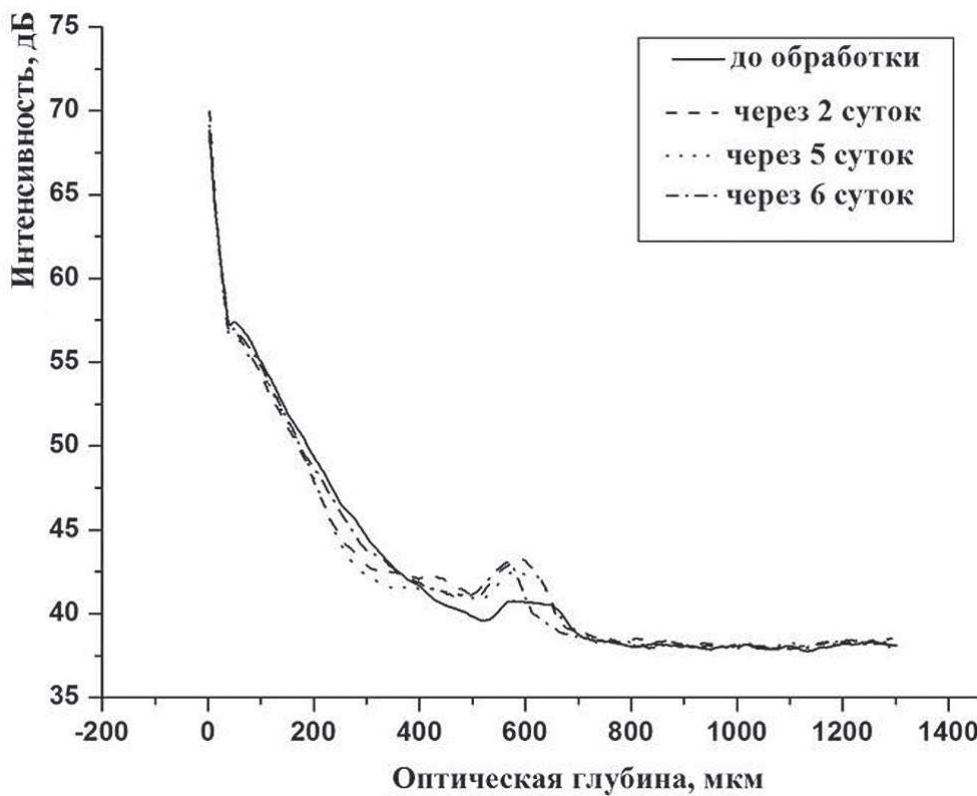


Рис. 4. Усредненные А-сканы, полученные в различные моменты времени в процессе обработки эмали наночастицами TiO_2



так как наночастицы, внедренные в приповерхностные слои, могут значительно увеличить кратность рассеяния фотонов и соответственно время их задержки. Если этот эффект интерпретировать в терминах однократного рассеяния, он будет истолкован как проникновение наночастиц на большую глубину.

Временной ход процесса представляется различным для дентина и эмали. Если для дентина основные изменения, судя по виду сигнала ОКТ (см. рис. 3) происходят в течение первых трех дней эксперимента, а затем происходят лишь незначительные его колебания, то для эмали изменения продолжают и на 5–6-й день эксперимента. Объяснение этих явлений требует более детального анализа.

Диффузия агента, в котором взвешены наночастицы, также может происходить в ходе данного эксперимента, однако, как можно ожидать на основании наших предшествующих работ [7–9], она должна вызывать оптическое просветление образца, то есть ослабление, а не усиление его рассеивающих свойств.

Заключение

Исследована возможность использования оптической когерентной томографии для визуализации проникновения наночастиц в ткани зуба. Результаты ОКТ-сканирования и обработки полученных изображений показали, что в результате многодневной обработки образца зубной ткани суспензией наночастиц двуокиси титана наблюдается заметное (до 5 дБ) увеличение сигнала ОКТ с глубин, достигающих 300–600 мкм, что является свидетельством проникновения наночастиц двуокиси титана в эмаль и дентин зуба.

Благодарности

Авторы благодарны В. Л. Дербову за помощь в обсуждении результатов.

Исследование проведено при финансовой поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере Седьмой рамочной программы Комиссии Европейского Союза PHOTONICS4LIFE (грант № 224014 Network of Excellence for Biophotonics).

Список литературы

1. *Uskokovic V., Bertassoni L. E.* Nanotechnology in dental sciences : Moving towards a finer way of doing dentistry // *Materials*. 2010. Vol. 3. P.1674–1694.
2. *Gupta J.* Nanotechnology applications in medicine and dentistry // *JICD*. 2011. Vol. 2. P. 1–8.
3. *Liu M.-H., Chan Ch.-H., Ling J.-H., Wang Ch.* Filling in dentinal tubules // *Nanotechnology*. 2007. Vol. 18. P. 475104–475109.
4. *Shrestha A., Fong S.-W., Khoo B.-Ch., Kishen A.* Delivery of antibacterial nanoparticles into dentinal using high-intensity focused ultrasound // *JOE*. 2009. Vol. 35, № 7. P. 1028–1033.
5. *Suemori T., Kato J., Nakazawa T., Akashi G., Hirai Y.* A new non-vital tooth bleaching method using titanium dioxide and 3.5% hydrogen peroxide with a 405-nm diode laser or a halogen lamp // *Laser Phys. Lett*. 2008. Vol. 5, № 6. P. 454–459.
6. *Li L., Pan H., Tao J., Xu X., Mao C., Gu X., Tamg R.* Repair of enamel by using hydroxyapatite nanoparticles as the building blocks // *J. Mater. Chem*. 2008. Vol. 18. P. 4079–4084.
7. *Trunina N. A., Lychagov V. V., Tuchin V. V.* OCT monitoring of diffusion of clearing agents within tooth dentin // *Proc. SPIE*. 2009. Vol. 7443. P. 74432D.
8. *Trunina N. A., Lychagov V. V., Tuchin V. V.* OCT monitoring of diffusion of water and glycerol through tooth dentin in different geometry of wetting // *Proc. SPIE*. 2010. Vol. 7563. P. 75630U.
9. *Трунина Н. А., Лычагов В. В., Тучин В. В.* Исследование диффузии воды через дентин зуба человека методом оптической когерентной томографии // *Опт. и спектр*. 2010. № 2. С. 1246–1252.
10. *Ghosn M. G., Sudheendran N., Wendt M., Glasser A., Tuchin V. V., Larin K. V.* Monitoring of glucose permeability in monkey skin *in vivo* using Optical Coherence Tomography // *J. Biophot*. 2010. Vol. 3, № 1–2. P. 25–33.
11. *Ghosn M. G., Tuchin V. V., Larin K. V.* Nondestructive quantification of analyte diffusion in cornea and sclera using optical coherence tomography // *IOVS*. 2007. Vol. 48, № 6. P. 2726–2733.
12. *Ghosn M. G., Carbajal E. F., Befrui N. A., Tuchin V. V., Larin K. V.* Differential permeability rate and percent clearing of glucose in different regions in rabbit sclera // *J. Biomed. Opt*. 2008. Vol. 13, № 2. P. 021110-1–021110-6.
13. *Zimnyakov D. A., Pravdin A. B., Kuznetsova L. V., Kochubey V. I., Tuchin V. V.* Random media characterization using the analysis of diffusing light data on the basis of an effective medium model // *J. Opt. Soc. Amer. A*. 2007. Vol. 24, № 3. P.711–723.